

Capitolo 8. Carcinogenesi ambientale e chimica



Sommario

Introduzione

Carcinogenesi chimica: una breve storia

Noi ed i carcinogeni, ogni giorno

Il metabolismo dei carcinogeni

Il programma REACH della Commissione Europea

Conclusioni

Introduzione

L'incidenza di alcune patologie, tra cui il cancro, è aumentata in misura significativa negli ultimi decenni. Sebbene le cause di questo aumento non siano ancora del tutto accertate, e vi concorrano senz'altro anche le abitudini voluttuarie personali come fumo e alimentazione, è plausibile ritenere che l'esposizione a determinate sostanze chimiche abbia un ruolo significativo, anche alla luce di specifiche dimostrazioni sperimentali altamente significative.

La carcinogenesi è stata definita come un processo a più stadi che coinvolge sia i processi cellulari, che conducono alla trasformazione neoplastica e alla crescita incontrollata delle cellule tumorali, sia i meccanismi di difesa dell'ospite, primi fra tutti quelli del sistema immunitario.

Il processo di sviluppo di un tumore può essere suddiviso in

tre stadi principali (stadi della carcinogenesi):

- (1) **iniziazione o induzione:** fase in cui si sviluppano le mutazioni, causate da danni non riparati alla molecola di DNA, per azione di carcinogeni fisici o chimici sulle cellule, che diventano così cellule “mutate”.
- (2) **promozione:** fase in cui si osserva un aumento della sintesi del DNA, e quindi della proliferazione delle cellule mutate, con una sopravvivenza selettiva delle cellule trasformate. La fase di promozione è dovuta a fattori che agiscono direttamente sul metabolismo cellulare o sulle funzioni della membrana cellulare, oppure a fattori che influenzano la resistenza antineoplastica dell'ospite. Importanti fattori di promozione della crescita cellulare sono gli ormoni endogeni ed i fattori alimentari in eccesso, come i lipidi.
- (3) **progressione:** fase durante la quale le cellule tumorali mostrano un aumento di mutazioni genetiche e la conversione in fenotipo pienamente maligno, sino alla formazione di aggregati neoplastici con vivace neovascolarizzazione e tendenza alla motilità ed alla diffusione (figura 1).



Figura 1: Fasi della carcinogenesi

Alcuni fattori ambientali possono influenzare il processo della carcinogenesi a vari livelli, sia in modo diretto (effetto carcinogenico) che indiretto, riducendo ad esempio le naturali difese dell'ospite.

A questi si aggiunge la produzione complessiva di sostanze

chimiche, che è passata da un milione di tonnellate nel 1930 a 400 milioni di tonnellate alla fine del secolo. L'industria chimica europea produce il 31% dei prodotti chimici mondiali (contro il 28% degli Usa) e costituisce il terzo settore produttivo manifatturiero.

Le sostanze chimiche che circolano nel mercato comunitario sono circa 100 mila, ma solo l'1% di queste è stato adeguatamente testato per valutarne le caratteristiche di sicurezza e gli eventuali danni che da esse possono derivare alla salute e all'ambiente.

Molte molecole di sintesi sono scarsamente biodegradabili, si accumulano nell'ambiente ed entrano nel ciclo alimentare. Il latte materno contiene quantità sempre più elevate di sostanze chimiche sintetiche quali i policlorobifenili, o sostanze ritardanti di fiamma, come il derivato pentabromato dell'ossido di difenile.

Alcuni disturbi del sistema riproduttivo e dello sviluppo, osservati nella fauna selvatica e, in particolare, nei mammiferi marini, sono stati correlati a sostanze che alterano il sistema endocrino (endocrine disruptors), come i composti policiclici.

Nell'uomo è stato dimostrato con certezza che l'amianto provoca tumori polmonari e mesoteliomi della pleura, il benzene induce la leucemia, il monomero del cloruro di vinile provoca l'angiosarcoma epatico.

I provvedimenti di divieto di utilizzo, o di controllo dell'esposizione a queste sostanze sono giunti purtroppo soltanto dopo il verificarsi dei danni, in quanto né i lavoratori addetti alla produzione né i consumatori finali ne conoscevano gli effetti negativi per la salute e per l'ambiente.

Carcinogenesi chimica: una breve storia

I primi ragionamenti scientifici riguardanti l'associazione tra cancro ed esposizioni occupazionali possono essere datati intorno alla metà del sedicesimo secolo, quando Theophrastus Bombastus von Hohnheim, meglio conosciuto come Paracelso, in base alle sue osservazioni

nelle miniere dell'Austria, e in diversi altri luoghi nell'Europa, nel 1567 descrisse la "malattia che fa deperire i minatori". Egli ipotizzò che l'esposizione ad alcuni minerali naturali come il realgar (solfuro di arsenico) potesse essere la causa di questa condizione.

Sebbene la patologia osservata fosse probabilmente legata alla radioattività emessa dai prodotti di decadimento del gas radon piuttosto che all'arsenico, Paracelso è stato indubbiamente uno dei primi uomini di scienza che abbiano considerato un composto chimico come un possibile carcinogeno occupazionale.

Uno studio più sistematico su particolari patologie correlate con i vari tipi di lavoro è stato pubblicato nel 1700 da Bernardino Ramazzini, che può perciò essere considerato il fondatore della medicina occupazionale. Più tardi nello stesso secolo, nel 1775, due medici inglesi, John Hill e Percivall Pott, ebbero l'intuizione che alcuni tumori potevano essere causati da fattori ambientali. Percival Pott pubblicò la sua fondamentale monografia su una malattia professionale degli spazzacamini, il cancro dello scroto, che documentava che questo tumore poteva essere causato dai residui di fuliggine non rimossi. Nel 1822, John Ayrton Paris ipotizzò che anche i vapori di arsenico potessero contribuire al manifestarsi del tumore dello scroto nei lavoratori della Cornovaglia e del Galles addetti alla fusione del rame. Alla fine del diciannovesimo secolo, divenne evidente che le esposizioni occupazionali a determinati agenti chimici o a loro miscele avevano effetti carcinogeni. Ad esempio, Richard von Volkmann e Joseph Bell confermarono le iniziali osservazioni di Pott nel descrivere i casi di numerosi tumori dello scroto nelle industrie della paraffina di Scozia e Germania.

Nel tardo 1880 il patologo e dermatologo inglese Sir Jonathan Hutchinson pose in relazione l'uso medico di arsenico con una frequente insorgenza di cancro della pelle. Nel 1895, il chirurgo Ludwig Wilhelm Carl Rehn descrisse il cosiddetto "cancro dell'anilina", ossia un tumore del tratto urinario, in particolare della vescica, ricorrente tra gli uomini impiegati nell'industria tedesca dei coloranti a base

di anilina, utilizzati soprattutto nella produzione di fucsina. Successive osservazioni cliniche hanno associato l'esposizione all'asbesto con la formazione di mesotelioma, l'inalazione di idrocarburi aromatici policiclici con il tumore polmonare, e così via.

Dal 1907 è stato ufficialmente riconosciuto in Gran Bretagna che il cancro di ogni distretto cutaneo può essere causato da pece, catrame o composti catramati. Fino ad allora i medici erano stati soltanto in grado di osservare nel loro complesso gli effetti delle esposizioni occupazionali, dovute allo sviluppo crescente dell'industrializzazione. Le prime osservazioni tra fuliggine e cancro della pelle degli spazzacamini risalgono ad oltre un secolo prima (fine del '700) con gli studi di Sir Percival Pott.

Il passo successivo, nei primi decenni del '900, è consistito in un'indagine sistematica mediante la riproduzione delle patologie neoplastiche in sistemi sperimentali. Dopo molti fallimenti iniziali, finalmente, il patologo giapponese Katsusaburo Yamagiwa e il suo assistente Koichi Ichicawa riuscirono a riprodurre il cancro in animali da laboratorio, con gli esperimenti sui tumori epiteliali maligni generati mediante applicazione di bitume di carbone sulle orecchie di conigli, a partire dal 1915. Questi esperimenti pionieristici segnarono il passaggio nell'era moderna della ricerca sperimentale sul cancro.

Durante quegli anni, l'identificazione dei singoli carcinogeni entro miscele complesse era molto difficile, ma nel 1930, per la prima volta, Sir Ernst Kennaway e i suoi collaboratori del Royal Cancer Hospital di Londra dimostrarono che un singolo idrocarburo policiclico aromatico (**PAH**) ad elevato peso molecolare come il dibenzantracene (**DBA**) induceva tumori nei topi. Un altro composto attivo, isolato da due tonnellate di pece di catrame di carbone risultò essere un altro idrocarburo policiclico aromatico, il benzopirene pentaciclico (**BP**). Studi paralleli con ammine aromatiche, o con composti correlati, hanno arricchito i dati sulla carcinogenicità dei prodotti chimici industriali che erano stati messi in circolazione durante questo tempo.

Nel frattempo, altri studiosi fornirono evidenze per la epato-carcinogenicità dei coloranti amminoazoici come l'o-amino-azotoluene e l'N, N-dimetil-4-aminoazobenzene (**DAB** o giallo burro) nei ratti. Nel 1941 fu pubblicato il primo rapporto sulla tumorigenesi nei ratti in vescica, fegato, rene, pancreas e polmone, indotta dal 2-acetilaminofluorene (**AAF**), una arilamide usata come pesticida. Dal 1940, evidenze per la carcinogenesi chimica negli uomini, inizialmente alimentate da osservazioni di singoli casi sono state completate con dati sperimentali estesi.

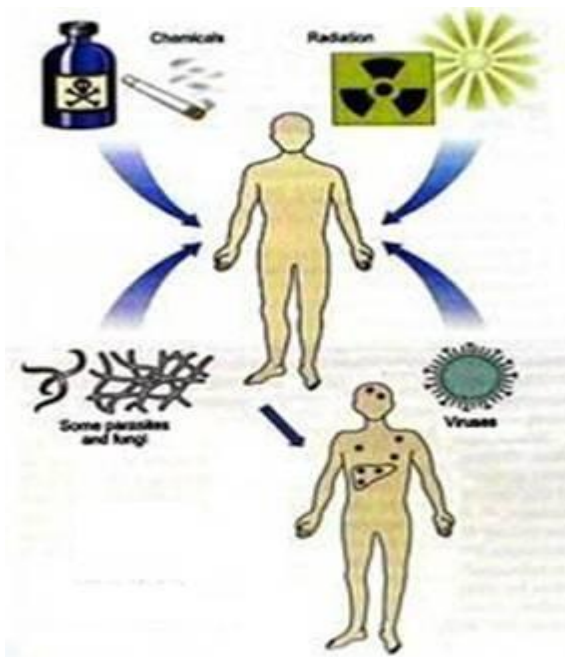
Nel tempo si è dimostrato che moltissimi sono gli agenti che possono causare tumore. Annualmente, ormai da diverso tempo, la IARC (International Agency for Research on Cancer) di Lione (una branca dell'Organizzazione Mondiale della Sanità) pubblica un dettagliato resoconto sui carcinogeni accertati sia in campo umano che in campo animale e sperimentale. Nei rapporti della IARC le sostanze cancerogene accertate o fortemente sospettate come tali ammontano ormai a parecchie centinaia.

Noi ed i carcinogeni, ogni giorno

Siamo tutti quotidianamente esposti a miscele di composti con differenti gradi di attività biologica. Si tratta di sostanze tossiche e non tossiche, che includono inquinanti organici persistenti che sono capaci di accumularsi negli organismi viventi, interagire gli uni con gli altri e causare effetti tossici aggiuntivi o sinergici nell'ambiente e negli organismi viventi.

Esiste una forte correlazione tra lo stato di salute delle popolazioni e le loro modalità di esposizione ad agenti inquinanti presenti nelle diverse matrici ambientali (aria, acqua, suolo). In particolare vanno ricordate le esposizioni di natura non volontaria agli inquinanti atmosferici, ai contaminanti dell'acqua potabile e agli agenti rilasciati nel suolo e nelle falde acquifere dal trattamento dei rifiuti (figura 2).

Le malattie croniche registrate dall'Organizzazione Mondiale



della Sanità, con particolare riguardo ai tumori, crescono ovunque in modo allarmante, ma soprattutto nei paesi fortemente industrializzati, nei quali l'incidenza dei tumori è in costante crescita dal 1950, e l'inquinamento chimico contribuisce a tale fenomeno in misura davvero rilevante.

Figura 2: Principali sostanze carcinogeniche

Secondo uno studio recente, prodotto dall'Istituto Tumori Regina Elena di Roma, su 400 decessi per cancro che si verificano ogni giorno in Italia, 360 (il 90%) sono una diretta conseguenza dell'inquinamento ambientale. L'Istituto Nazionale per la ricerca sul Cancro di Milano ha rilevato, per chi vive in città, un aumento del 20-40 per cento (rispetto a chi vive in campagna) del rischio di contrarre un tumore ai polmoni, principalmente a causa dell'inquinamento atmosferico. Com'è noto, uno dei principali responsabili dell'inquinamento atmosferico nelle aree urbane è il traffico automobilistico che immette nell'atmosfera, oltre ad altre sostanze nocive come l'ossido di carbonio, anche polveri sottili che veicolano metalli pesanti e idrocarburi policiclici aromatici che vengono respirati (per molti di tali idrocarburi l'Organizzazione Mondiale della Sanità e la IARC hanno accertato un alto livello di cancerogenicità).

E' importante inoltre considerare che l'esposizione agli inquinanti di sicuro impatto sulla salute umana può avvenire in differenti ambienti di vita, luoghi di lavoro, ambiti domestici e ricreativi.

Dati epidemiologici sulle variazioni geografiche e temporali nell'incidenza del cancro e studi sulle popolazioni migranti e sui loro discendenti hanno dimostrato che gli individui

acquisiscono il quadro di rischio di cancro delle nazioni in cui si sono trasferiti, dimostrando che l'esposizione ambientale rende un contributo sostanziale ai tumori umani. Questi studi, insieme con quelli sugli stili di vita e sulle abitudini conducono alla conclusione che la grande maggioranza (oltre l'80%) dei decessi per tumore nei paesi industrializzati può essere attribuito a fattori come tabacco (30%), dieta (35%) alcool, infezioni ed esposizioni occupazionali.

Inoltre, nella vita quotidiana siamo esposti più facilmente a dosi piccolissime di un gran numero di cancerogeni diversi (miscele complesse), con possibilità di sinergie anche moltiplicative, piuttosto che a un singolo carcinogeno a dosi elevate.

Ad es. il fumo di sigaretta contiene circa 60 diverse sostanze ad azione carcinogena accertata, appartenenti ad una varietà di classi chimiche che includono benzopirene, naftil-ammine, nonché ioni metallici come nichel, arsenico e cadmio (figura 3).

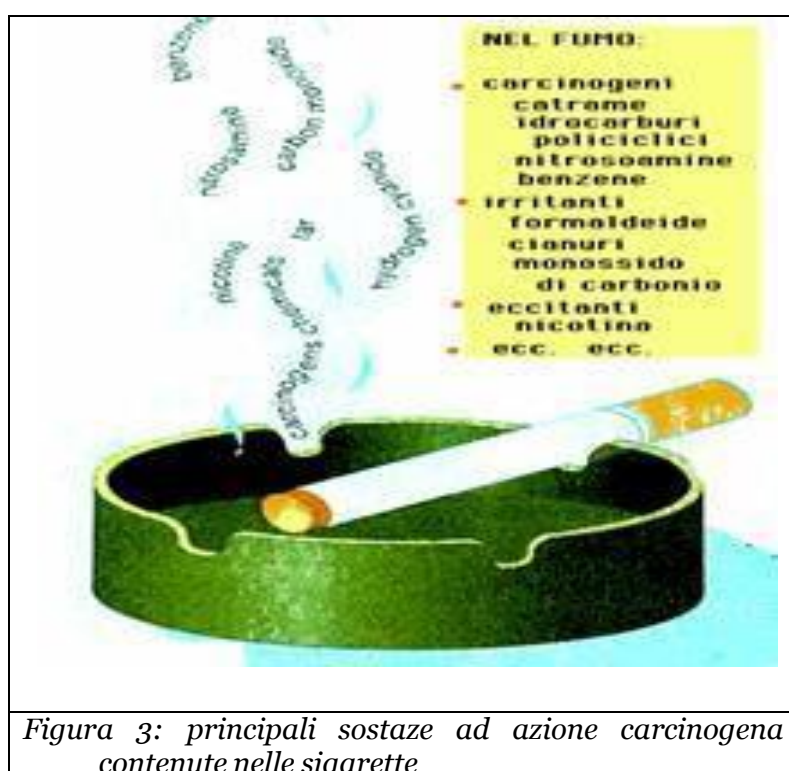


Figura 3: principali sostanze ad azione carcinogena contenute nelle sigarette

Numerosi studi epidemiologici hanno evidenziato che il rischio di contrarre un tumore polmonare è notevolmente

più elevato nei fumatori. Di questo sono convinti anche gli stessi fumatori (il 70% di essi, secondo una recente statistica). L'aumento di rischio sarebbe da addebitarsi anche alla progressiva depressione sia dell'immunità umorale che cellulare, provocata dall'esposizione al fumo di sigarette. Si è visto che in questa depressione gioca un ruolo l'azione sinergica del fumo di sigaretta con l'inalazione di contaminanti atmosferici, presenti in grande quantità nelle aree industriali.

Tuttavia, solo in Italia sono ben 20 milioni le persone che non riescono a vivere senza la sigaretta. I motivi sono sia di ordine culturale, sia soprattutto riconducibili all'assuefazione farmacologica ed alla dipendenza neuronale che il tabacco produce. Il consumo massiccio di sigarette è incominciato durante la prima guerra mondiale, quando i militari sul fronte europeo furono riforniti di sigarette che (assicuravano i produttori di tabacco ai vari Stati Maggiori dell'Esercito) riuscivano a rendere i soldati meno tesi e, quindi, più efficienti. In effetti, la nicotina contenuta nelle sigarette ha un potere ansiolitico che dura, tuttavia, circa mezz'ora; dopo di che bisogna ricorrere ad un'altra sigaretta.

Ben presto questa autentica droga, grazie al suo basso costo e alla possibilità di essere consumata anche durante l'attività lavorativa, cominciò a diffondersi soprattutto tra gli strati più umili della popolazione. L'industria del tabacco negli anni '40 cominciò a reclutare le più famose star di Hollywood per convincere sempre più gente a fumare. Molti celebri attori, soprattutto di film d'azione e western sono stati testimonial pubblicitari per le sigarette. Il consumo di tabacco stava crescendo vertiginosamente e la sigaretta era divenuta in tutti i paesi occidentali sintomo di modernità e di successo quando, poco alla volta, il legame sigaretta/cancro al polmone cominciò a venir fuori, dapprima sulle riviste di medicina (a partire dal 1950) e poi, timidamente, sui mass media provocando la reazione dell'industria del tabacco.

Nonostante i massicci investimenti pubblicitari, oggi il consumo di sigarette nei paesi industrializzati sta conoscendo un

sensibile calo, mentre sta ancora crescendo molto nei paesi del Medio ed Estremo Oriente e in quelli africani, dove la sigaretta viene presentata come simbolo di emancipazione e di modernità. I risultati sulla salute non si sono fatti attendere: oggi, ad esempio, in paesi come l'Indonesia (dove le sigarette si sono diffuse solo nel secondo dopoguerra) il tumore al polmone sta conoscendo un'impressionante crescita. In Occidente l'incidenza di cancro del polmone ed altre neoplasie legate al fumo di tabacco è in aumento tra le donne, parallelamente all'aumento della loro abitudine al fumo, che viene considerata un simbolo di emancipazione, di indipendenza e di successo. Questa situazione è molto grave, considerando che la donna come madre è la prima fondamentale educatrice, e una madre fumatrice è un modello estremamente negativo, che può facilmente indurre i suoi figli ad



imitarne l'esempio.

Esiste poi il problema della persistenza dell'abitudine al fumo tra il personale sanitario. I medici, gli infermieri e tutti coloro che operano nel campo della salute hanno indubbiamente un ruolo fondamentale, in virtù della loro credibilità e del ruolo di informatori sulla salute;

naturalmente, se il personale sanitario fuma, molti dei messaggi di prevenzione diretti alla popolazione possono perdere di efficacia. L'immagine del medico fumatore diffonde la convinzione che il fumo non è poi così pericoloso (se anche il mio medico fuma...). In Inghilterra, si è dimostrato che, dopo aver ricevuto un semplice e rapido avviso sui pericoli del fumo da parte del medico di base e opuscoli informativi al riguardo, circa il 60% dei fumatori ha provato a smettere di fumare e circa il 5% vi è definitivamente riuscito. Negli Stati Uniti, il consiglio corretto sul fumo da parte dei medici ha fatto raddoppiare i tentativi per smettere ed il 5,8% è stata la percentuale di cessazione ad un anno dall'intervento senza l'uso di altri metodi.

In Italia, circa il 40% del personale medico negli ospedali fuma abitualmente con una percentuale leggermente più elevata al Sud. Quasi ovunque la percentuale di fumatrici tra i medici di sesso femminile è più elevata di quella dei loro colleghi maschi. La situazione del personale paramedico appare ancora più sconcertante aggravandosi mediamente di un ulteriore 10% (Dati OMS).

Tutto il personale sanitario deve avere l'obiettivo prioritario di proteggere la salute dei pazienti. E' importante quindi che gli operatori siano non fumatori, per fare in modo che le informazioni date al pubblico attraverso i programmi di prevenzione non perdano la loro efficacia. Quanto meno, il medico fumatore non dovrebbe mai fumare in pubblico o davanti ai suoi pazienti.

Inoltre fra le persone esposte al fumo ambientale sono compresi neonati, bambini, anziani, gestanti, malati cronici, tutti gruppi che possono essere molto più suscettibili alla cancerogenesi rispetto agli adulti sani.

Un'altra struttura in cui si pone il problema del cattivo esempio, è la scuola. Spesso capita che gli insegnanti, educatori per eccellenza, invece di invitare gli studenti a non fumare, mettendoli a conoscenza degli effetti nocivi che il fumo provoca, fumano davanti a loro incuranti anche delle vigenti normative. Si è riscontrato infatti, dagli studi statistici effettuati, che la maggior parte dei giovani inizia a

fumare tra i 14 ed i 20 anni, proprio quando sono più esposti agli ambienti educativi.

E tutto questo avviene nella nostra società contemporanea mentre si registra inoltre una crescita esponenziale nella produzione di nuove sostanze chimiche, che sono finora più di quattro milioni, di cui 60.000 di uso comune. Sotto il profilo tossicologico, numerose di queste sostanze alterano gli equilibri ormonali e possono essere carcinogeni, mutageni o tossici per la riproduzione; pertanto molte di dette sostanze possono produrre tumori, malformazioni congenite e/o infertilità; alcune di esse possono avere, tra gli altri, effetti allergenici che conducono a malattie respiratorie croniche come l'asma; altre rappresentano agenti chimici neurotossici, che portano a malattie degenerative del sistema nervoso centrale nella popolazione adulta e a problemi intellettivi nei bambini; alcune infine sono immunotossine, che portano a immunodeficienza, in particolare nei bambini, e causano infezioni, soprattutto virali.

Poiché molti studi di laboratorio sono stati condotti con composti singoli, i risultati non possono essere estrapolati direttamente agli effetti delle miscele di dette sostanze (che spesso vengono a contatto con il corpo umano, con basse dosi di sostanze molteplici). Le interazioni multiple tra composti individuali possono avere effetti additivi, sinergici o antagonizzanti.

Considerando due sostanze tossiche diverse, possiamo dire che queste possono portare a:

Effetto sinergico, se l'effetto finale provocato dalla somma degli effetti delle due sostanze, è maggiore di quello dato da una sola delle due ($A+B > A$)

Antagonismo, se l'effetto di un agente viene diminuito dall'aggiunta dell'altro agente ($A+B < A$). Se le due sostanze hanno separatamente lo stesso effetto, possono portare ad un

Effetto additivo quando i due risultati vengono a sommarsi.

Per questi ed altri motivi biologici i bambini sono più sensibili degli adulti ai rischi ambientali: su scala mondiale

i due terzi di tutte le malattie dovute a cause ambientali colpiscono i bambini. Le ragioni sono molteplici. Innanzitutto, tutti i processi di assorbimento e di metabolismo sono accelerati nell'infanzia, mentre la vulnerabilità dei tessuti all'esposizione a varie sostanze presenti nell'ambiente è molto più accentuata che non negli adulti. Inoltre i bambini sono più esposti alle sostanze inquinanti presenti nell'ambiente, un rischio che inizia ancor prima di nascere, visto che essi assorbono sostanze nocive già nella fase di gestazione e poi attraverso l'allattamento al seno. Un esempio è stato documentato, infatti, in seguito al disastro di Chernobyl, quando, in seguito all'esplosione della centrale nucleare, si è riversata nell'ambiente una grandissima quantità di Iodio radioattivo (131). Questo, essendo una sostanza a carattere liposolubile, che quindi attraversa facilmente le membrane, si è ritrovato nelle aree colpite, ad una concentrazione di 1,4-4,3 Bq/l nel latte materno umano; nel latte vaccino, invece, la concentrazione era addirittura di 220-280 Bq/l. Essendo una sostanza radioattiva, lo Iodio 131 ha portato ad esposizioni con possibili mutazioni proprio nei bambini e nei vitelli esposti. Il problema, infatti, comincia dalle mamme, le quali, se sono esposte alle sostanze chimiche disperse nell'ambiente le trasferiscono ai loro bambini attraverso la placenta e, successivamente, attraverso il latte materno. Si sviluppano così patologie teratogene, cioè che portano danno al bambino durante la gravidanza, con malformazioni degli organi. In particolare, si possono avere due tipi di risposta alle sostanze nocive. Se l'esposizione si ha nel periodo embrionale (2°-3° mese), in cui si ha il differenziamento dei vari organi, ci può essere malformazione di questi ultimi e quindi c'è una modificazione *anatomica*; se invece l'esposizione si ha dal 4° mese in poi (periodo fetale), si può avere una non funzionalità degli organi anche se questi sono anatomicamente normali (modificazione *funzionale*). In più non va sottovalutato che i bambini, in rapporto al peso, respirano più aria degli adulti, e l'aria che respirano è di peggiore qualità in quanto più vicina al suolo e, quindi,

più ricca delle polveri fini residue dalla combustione dei carburanti. Gli stessi bambini poi, trascorrono i primi anni di vita respirando le polveri domestiche o del suolo e mangiando cibi spesso addizionati con coloranti, conservanti ed edulcoranti chimici dei quali, il più delle volte non è stata accuratamente valutata la non tossicità per i più piccoli.

In questo senso, i numeri recentemente presentati dall'Organizzazione Mondiale della Sanità sono drammaticamente indicativi. Un bambino su tre in Europa muore a causa dell'inquinamento ambientale. I bambini al di sotto dei cinque anni rappresentano soltanto il 10% della popolazione mondiale, ma il loro tasso di mortalità è del 40%. A confermare questa tendenza, uno studio statunitense afferma che i bambini americani hanno più probabilità di andare incontro a problemi di salute a causa delle sostanze chimiche ambientali. Per molte di esse, infatti esistono generiche indicazioni di pericolo di ritardo mentale, mancato sviluppo intellettuale o problemi comportamentali per esposizione diretta o continua.

La generale deindustrializzazione che sta interessando i paesi progrediti, con il trasferimento di numerose lavorazioni verso i paesi del cosiddetto Terzo Mondo (dove sono quasi assenti controlli sanitari sul posto di lavoro), sta progressivamente limitando l'indagine epidemiologica sul rapporto tra cancro ed esposizione ambientale, trasferendo molte lavorazioni pericolose in altre nazioni con minori controlli.

Alcune delle sostanze chimiche presenti nell'ambiente sono state sottoposte a test di neurotossicità per lo sviluppo, ovvero test nei quali, facendo ricorso ad esperimenti sugli animali si cercano di avere informazioni su quanto accade nel sistema nervoso fetale e neonatale quando è esposto a queste sostanze. Questi test, peraltro non disponibili per il 75% delle 3000 sostanze chimiche più comuni, hanno rischiato di dare via libera alla diffusione di sostanze - come l'arsenico e il benzolo - che a successive analisi si sono dimostrate cancerogene per l'uomo ma che non producono tumori nelle cavie da laboratorio.

Successivamente, per determinare se una sostanza fosse cancerogena è stato adottato il sistema delle colture di tessuto in cui cellule sane possono essere "trasformate", cioè convertite in cellule neoplastiche, da parte di sostanze chimiche. Il *benzolo* è un idrocarburo aromatico meglio conosciuto come *benzene* E' considerato il composto base della classe degli idrocarburi aromatici; E' un carcinogeno riconosciuto per l'uomo: provoca infatti leucemie se si hanno esposizioni sporadiche, per esposizioni croniche invece, si ha danno diffuso al midollo osseo emopoietico, anche con la comparsa di varie neoplasie.

Mentre i test sugli animali sono scomodi e costosi e spesso necessitano di tempi lunghi per fornire una risposta sulla potenziale dannosità di sostanze chimiche, test rapidi non condotti su animali sono in grado di fornire risultati nell'arco di ore o di giorni (p.es. il test di mutagenicità secondo Ames). Il sistema delle colture di tessuto, utilizzato dapprima per gli studi della carcinogenesi virale e poi applicato anche a quella chimica, presenta il vantaggio di permettere il controllo accurato dei fattori ambientali e quelli dell'ospite, nonché il dosaggio delle sostanze studiate. Un esempio dei test sugli animali, è il *saggio biologico a due anni* che viene utilizzato per bandire dall'uso un potenziale cancerogeno. Questo test, però, si deve effettuare come "ultima spiaggia" cioè quando non sono stati ottenuti risultati soddisfacenti con gli altri tipi di test. Prevede che un gruppo di animali sia sottoposto alla sostanza potenzialmente cancerogena, e che, gli effetti di questa sul gruppo trattato, siano confrontati con un gruppo controllo sottoposto alle stesse condizioni del trattato tranne che per l'esposizione alla sostanza. Si ha inoltre, un controllo storico per la variabilità dell'esperimento negli anni dovuta a fattori di diversa origine. Vengono registrati tutti i parametri necessari per la verifica (es. temperatura, umidità, quantità di cibo somministrata, ecc.) sia all'inizio che alla fine dell'esperimento e si vede se l'incidenza dei tumori nel gruppo trattato aumenta con l'aumentare della dose rispetto al controllo. Viene inoltre calcolata la massima

dose di sostanza tollerata.

Il test di Ames, invece, utilizza metodi batteriologici che sono significativamente meno costosi e più veloci dei test precedenti. Esso permette di valutare se la sostanza in esame è in grado di provocare danni genetici sul batterio *Salmonella*.

Questo test costituisce un metodo di screening rapido per una possibile cancerogenicità degli agenti chimici, in quanto si basa sulla forte correlazione che esiste tra mutagenicità e cancerogenicità e permette di stabilire se la sostanza chimica in esame possiede capacità di indurre mutazioni in un ceppo di salmonella, la *Salmonella typhimurium*, in cui un enzima della via biosintetica dell'istidina è compromesso a causa di una mutazione del gene corrispondente.

Se l'agente chimico in esame è mutageno, potrà determinare una mutazione (reversione) nel gene compromesso permettendo così al batterio di risintetizzare l'aminoacido essenziale.

Il test di Ames ha una buona percentuale di previsione di cancerogenicità delle sostanze studiate con un risultato positivo per il 90% di veri carcinogeni e con appena il 10% di risultati falsamente negativi. Oltre al test di Ames, altri test in vitro possono essere utilizzati per rilevare danni indotti dalle sostanze chimiche. Tra i danni rilevabili ritroviamo: addotti al DNA, addotti alle proteine, frammentazione del DNA, formazione di micronuclei, scambio di cromatidi fratelli e aberrazioni cromosomiche.

La frammentazione del DNA si può rilevare attraverso diversi metodi:

- **Eluizione alcalina** PH 12-13 su membrana porosa di DNA: se ci sono frammenti dovuti al danno del DNA, vengono eluiti a seconda della loro grandezza molecolare.
- **Test della cometa** (comet assay): Può essere effettuato su una singola cellula e si basa sulla migrazione in elettroforesi dei frammenti. Se questi non ci sono, il DNA migrerà come un unico blocco, se ci sono, si formerà una coda di frammenti detta appunto "cometa".
- **Test della scala (ladder assay)**: i frammenti di DNA

migrano nel gel elettroforetico, distribuendosi sul tracciato come i pioli di una scala (ladder), a seconda della loro grandezza.

Lo *scambio dei cromatidi fratelli* può essere evidenziato attraverso una diversa colorazione dei due cromatidi.

I *micronuclei* possono essere individuati attraverso il test apposito. I micronuclei sono costituiti da frammenti di cromosomi o da cromosomi interi che non sono stati trasferiti alle cellule figlie durante la divisione cellulare. Vengono evidenziati al microscopio ottico su cellule in divisione.

Le *aberrazioni cromosomiche* possono essere NUMERICHE e STRUTTURALI. Le prime, vengono prodotte da sostanze aneugeniche (che provocano cioè aneuploidia, o variazione del numero dei cromosomi), le seconde, da sostanze clastogene (che provocano addensamenti o perdita di cromatina nei singoli cromosomi). Le aberrazioni strutturali possono essere rilevate al microscopio e sono: rotture cromosomiche, cromosomi dicentrici, traslocazioni tra due cromosomi e cromosomi ad anello.

Ad oggi, circa 200 differenti composti chimici e miscele di composti chimici sono conosciuti come carcinogeni accertati, o ipotizzati tali per l'uomo.

Purtroppo però, ancora non conosciamo in modo preciso e soddisfacente il valore dell'indice di soglia, cioè del limite di concentrazione di una determinata sostanza nell'ambiente, superato il quale la sostanza stessa determina l'insorgere di neoplasie. Il perché va ricercato nel meccanismo della cancerogenesi che può essere, idealmente, suddiviso in due stadi: induzione e promozione della crescita neoplastica. Nel primo, l'agente oncogeno conferisce alla cellula (attraverso le mutazioni provocate nel suo DNA) la potenzialità maligna attraverso modificazioni irreversibili: così verosimilmente agirebbero gli idrocarburi e le radiazioni. Le cellule possono quindi rimanere quiescenti sino allo stadio successivo, la cosiddetta promozione, in cui gli agenti (ad esempio, l'olio di croton o altri fenomeni infiammatori) sono meno

specifici, rispetto ai precedenti, e determinano la proliferazione di cellule potenzialmente maligne.

L'allontanamento degli agenti promotori può indurre un nuovo periodo di quiescenza.

Quali sono dunque i ruoli precisi dei singoli carcinogeni chimici nella eziologia del cancro umano, una malattia complessa che è causata dalla interazione di molteplici geni con molti fattori ambientali?

L'assenza di relazione di struttura nell'ambito delle diverse sostanze carcinogene e tra queste e quelle mutagene (che inducono un cambiamento di carattere che diviene ereditario), è stata in parte risolta solo recentemente quando si è scoperto che la grande maggioranza di agenti chimici carcinogeni per l'uomo richiede un'attivazione metabolica da parte dell'ospite per poter trasformare una cellula normale in una cellula cancerosa.

Il metabolismo dei carcinogeni.

Idrocarburi policiclici aromatici (IPA). Questa classe di carcinogeni comprende numerosi derivati del catrame a molecola con anelli benzenici ciclici. L'esposizione agli IPA può avvenire per inalazione, per ingestione o per via cutanea. Si diffondono velocemente nel corpo grazie alla loro liposolubilità e si accumulano nei reni, nel fegato e nel grasso. Provocano cancro allo stomaco, ai polmoni e alla pelle, ma prima devono essere attivati attraverso le vie metaboliche. Nell'era precedente le scoperte di Watson e Crick, e prima che si dimostrasse che gli agenti carcinogeni si legavano al DNA, si riteneva che gli effetti carcinogenici di molecole come il dimetil-amino-benzene (**DAB**) o il benzopirene pentaciclico (**BP**) fossero dovuti alla loro interazione con le proteine in specifici tessuti. Più tardi, quando la sensibilità della rilevazione fu aumentata con la disponibilità di prodotti chimici marcati con atomi radioattivi, si è potuto dimostrare che carcinogeni come la mostarda azotata (N metil bis cloroetilamina), le N nitrosamine (ad es. n-nitroso-dimetilamina), nonché gli IPA come ad es. il BP, amine e amidi aromatiche come l'Acetoamino fluorene (**AAF**), e amino-azocoloranti come

il DAB si legano al DNA in vivo (figura 4).

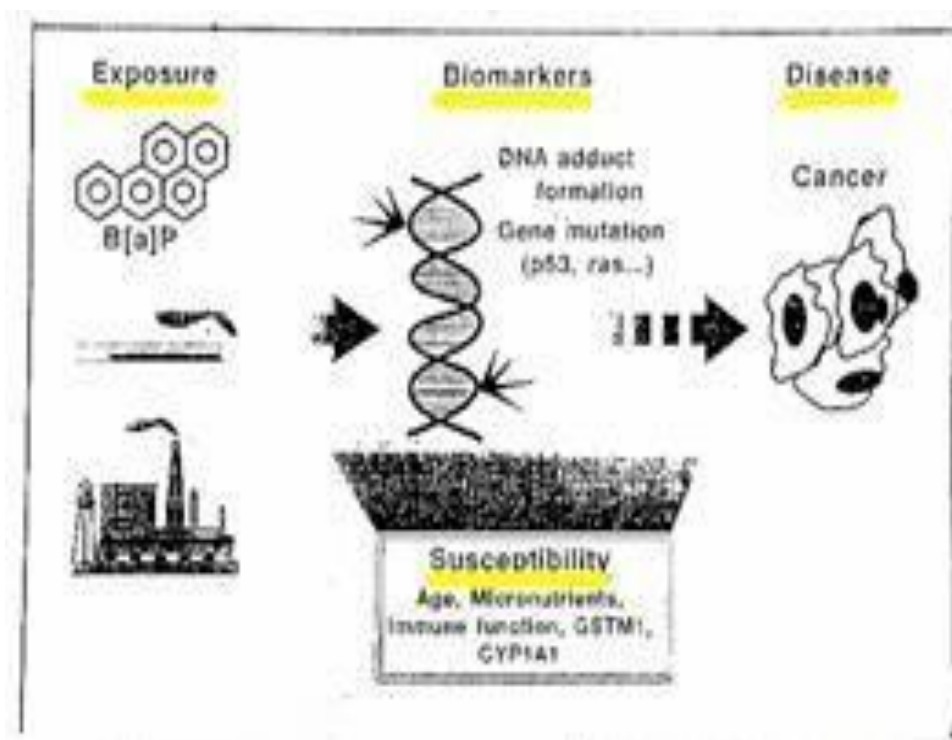


Figura 4: associazione tra gli IPA e cancro

Quando venne dimostrato che i carcinogeni erano capaci di legarsi con legame covalente alle proteine cellulari e al DNA, divenne ovvio che soltanto composti elettrofili sufficientemente reattivi ovvero molecole con forte affinità per le molecole cariche negativamente, erano capaci di interagire direttamente con queste macromolecole.

Possiamo quindi distinguere i carcinogeni in *GENOTOSSICI* ed *EPIGENETICI*.

I primi, interagiscono direttamente con il DNA e rappresentano un rischio qualitativo per la salute umana perché per molti di essi, il rischio zero si raggiunge con l'esposizione zero; possono essere divisi in attivazione indipendente ed attivazione dipendente a seconda se devono essere o meno attivati per esplicare la loro azione.

I cancerogeni epigenetici, invece, non sono in grado di interagire con il materiale genetico e alla base della loro cancerogenicità hanno altri meccanismi tipo:

- modificazione dell'attività ormonale

- citotossicità
- azione immunosoppressiva.

Molti dei cancerogeni epigenetici, sono attivatori di mitosi ed inibitori di apoptosi quindi determinano una aumentata proliferazione cellulare, rappresentano un pericolo quantitativo perché è possibile stabilire un valore soglia di dose che non determina alcuna attività cancerogena.

Come dimostrato da appositi studi, nel metabolismo dei carcinogeni il carcinogeno terminale (ovvero lo "ultimate carcinogen") è il derivato chimico che reagisce direttamente con le macromolecole cellulari, e deve contenere un centro elettrofilo reattivo che può attaccare i centri dei polinucleotidi e delle proteine. Se il carcinogeno terminale corrisponde alla molecola originaria, si parla di carcinogeni diretti; se invece esso corrisponde ad un derivato metabolico generato dentro l'organismo a partire dalla molecola ambientale penetrata, si parla di carcinogeni indiretti.

Fra i carcinogeni umani conosciuti, soltanto pochi agenti chimici appartengono alla classe dei carcinogeni diretti, ad es. l'ossido di etilene, il bis clorometil etere. gli ioni metallici e alcune aziridine o derivati delle mostarde azotate usate nella chemioterapia anticancro. Viceversa, i composti nucleofili o chimicamente inerti, come le amine aromatiche ed eterocicliche gli amino-azo coloranti, tutti gli IPA, le N- nitrosamine olefine alogenate e altri, rappresentano la grande maggioranza dei carcinogeni umani e sono carcinogeni indiretti.

Poiché questi composti chimici non reagiscono direttamente con i costituenti cellulari ma richiedono la conversione enzimatica nella loro forma carcinogena finale, essi sono denominati pro-carcinogeni.

La formazione preferenziale di determinati stereoisomeri durante l'attivazione metabolica dei carcinogeni genotossici può determinare il livello di danno al DNA, l'efficienza di riparazione del DNA e la potenza carcinogena del composto.

Subito dopo la prima caratterizzazione dei carcinogeni chimici puri, la rivelazione dei derivati idrossilati (e i loro prodotti

di coniugazione) nell'urina di animali trattati con questi composti indicavano che essi sono metabolicamente convertiti in vivo. Per esempio la *naftilammina*, viene prodotta durante la sintesi dell'anilina. Può essere detossificata attraverso la formazione di un addotto con l'acido glucuronico, ma questo si può scindere nell'urina per il suo PH acido.

Tra i procarcinogeni, gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA o PAH, polycyclic aromatic hydrocarbons) sono sicuramente le molecole con le quali si viene più frequentemente a contatto. Sebbene essi siano stati isolati dal catrame di carbone, virtualmente, la combustione incompleta di ogni materiale organico può condurre alla formazione di IPA. Questi composti sono perciò molto diffusi nell'ambiente. Le miscele contenenti IPA come le emissioni di stufe a carbone, la pece, la fuliggine, il fumo di sigarette sono classificati come carcinogeni accertati per l'uomo sulla base di evidenze epidemiologiche.

Lavorando sui metaboliti urinari dell'antracene, Boyland e Levi nel 1935 dimostrarono che gli IPA tossici potevano essere convertiti all'interno dell'organismo in sostanze patogeniche più attive oppure essere detossificati. Circa 20-25 anni più tardi è stato dimostrato che in questo processo sono coinvolti gli epossidi. Il 7,8 diidrodiole, un prodotto del benzopirene attivato per via enzimatica, si lega al DNA con un'affinità più elevata rispetto al benzopirene da cui deriva. E' stato successivamente osservato che un metabolita secondario, il 7,8 diidrodiole, 9,10 epossido, (diolo epossido vicinale), è la specie chimica che interagisce covalentemente con il DNA e rappresenta infatti il carcinogeno terminale del benzopirene. Questo conferma che i metaboliti diolo-epossidi del BP e di altri carcinogeni della classe degli IPA sono altamente mutageni e carcinogeni. Essi sono anche i metaboliti ultimi nella fase di iniziazione della tumorigenesi da IPA, in quanto si legano al DNA. E' stato ampiamente dimostrato che gli IPA non sarebbero carcinogenici se non fossero metabolizzati da passaggi successivi di epossidazione e di idrolisi.

L'alterazione di geni che codificano per enzimi o fattori che sono coinvolti in questo ruolo di attivazione rende i topi resistenti agli effetti biologici del benzopirene. Molti potenti IPA agiscono come carcinogeni completi nel topo quando applicati ripetutamente per periodi di tempo prolungati. Questi composti possono indurre mutazioni somatiche nei geni cruciali attraverso il legame al DNA (fase di iniziazione tumorale) e successiva crescita incontrollata di cellule trasformate in modo irreversibile (fase di promozione tumorale), perché possiedono anche una forte azione pro- infiammatoria.

Inoltre il grado di tumorigenicità di differenti IPA si correla con i livelli di addotti del DNA generati nel tessuto polmonare. Sia le relazioni tra i livelli di legame al DNA e la mutagenicità come la correlazione tra il legame totale al DNA e la carcinogenicità osservata nei topi indica che la formazione di addotti del DNA è un importante bioindicatore del rischio di cancro che risulta dall'esposizione ai carcinogeni IPA e ad altri carcinogeni genotossici.

Numerose altre sostanze chimiche sono riconosciute come potenziali carcinogeni oltre agli IPA: derivati organoalogenati tra cui le diossine ed i PCB (policlorobifenili), l'amianto, i metalli tossici - alcuni dei quali qualificati come metalli pesanti - come il piombo, il mercurio e il cadmio, i pesticidi, gli additivi alimentari (come i coloranti tipo giallo burro) e numerosi altri; alcuni di questi prodotti non sono o sono poco degradabili e persistono nell'ambiente, un gran numero contamina l'atmosfera, l'acqua, il suolo e la catena alimentare. Si ha infatti il fenomeno del *bioincremento* cioè si ha l'accumulo della sostanza negli animali dovuta al fatto che un animale che ha assunto la sostanza, viene mangiato da uno più grande, ed in quest'ultimo, preda dopo preda, la concentrazione del tossico nell'organismo aumenta fino a livelli patogeni. A maggior rischio sono dunque gli animali predatori e, tra questi, soprattutto l'uomo (predatore massimo dell'ecosistema terrestre).

Gli agenti carcinogeni agiscono attraverso una varietà di

meccanismi genotossici e non genotossici. Il legame al DNA e l'induzione di mutazioni in geni con suscettibilità al cancro, come p53 o ras, sono meccanismi di iniziazione tumorale. Inoltre, è stata accertata la concomitante capacità di molti composti di promuovere la crescita di cloni di cellule trasformate.

Quando alcuni carcinogeni chimici sono internalizzati dalle cellule, essi sono spesso metabolizzati, ed i prodotti metabolici risultanti o sono escreti o sono trattenuti dalla cellula. All'interno della cellula, i carcinogeni o i loro prodotti metabolici possono influenzare direttamente o indirettamente la regolazione e l'espressione di geni coinvolti nel controllo del ciclo cellulare, nella riparazione del DNA, nel differenziamento cellulare o nell'apoptosi. Alcuni carcinogeni agiscono mediante meccanismi genotossici, ossia formando addotti del DNA o inducendo la rottura dei cromosomi, la fusione, la delezione, la mis-segregazione e la non disgiunzione. Ad es. ioni carcinogenici o composti di nichel, arsenico e cadmio, possono indurre aberrazioni cromosomiche numeriche e strutturali. Altri agiscono mediante meccanismi non genotossici come l'induzione d'inflammatione, immunosoppressione, formazione di specie reattive dell'ossigeno, attivazione di recettori o il silenziamento epigenetico. Insieme, questi meccanismi genotossici e non genotossici possono alterare le vie di trasduzione del segnale che alla fine danno luogo a instabilità genomica, perdita del controllo della proliferazione cellulare e resistenza alla apoptosi, alcuni degli aspetti caratteristici delle cellule cancerose.

Gli enzimi che attivano i carcinogeni sono quelli la cui funzione primaria è la detossificazione e l'eliminazione di sostanze estranee all'organismo mediante ossidazione. Essi sono presenti nei microsomi cellulari cioè nelle particelle ribosomiali ancora attaccate alle membrane del il reticolo endoplasmico, sedi della sintesi proteica.

Nel 1948, James A. Miller fu il primo a dimostrare il metabolismo ossidativo di un carcinogeno, DAB, in un sistema privo di cellule contenente microsomi isolati da

fegato di ratto ed ha anche fornito la prima evidenza che determinati carcinogeni, come gli idrocarburi policiclici aromatici, sono capaci di promuovere il loro metabolismo attraverso l'induzione di proteine microsomiali. A quel tempo era noto che gli enzimi presenti nei microsomi erano ossidasi a funzioni miste, ma fu solo alla fine degli anni 1960 che fu scoperto il citocromo P450, e fu dimostrato che le monoossigenasi P450 dipendenti sono associate con una reduttasi NADPH dipendente.

Negli anni '60 è stata riconosciuta anche l'importanza di alcuni enzimi della famiglia delle trasferasi. Originariamente si riteneva che essi fossero coinvolti soltanto nei processi di detossificazione, ma è stato dimostrato che essi possono anche contribuire in vivo alla conversione di determinati procarcinogeni in carcinogeni attivi. La fase iniziale che avviene durante la conversione degli agenti organici xenobiotici in derivati idrofili, che possono essere escreti, è catalizzata principalmente da enzimi monoossigenasi P450-dipendenti (o citocromi P, **CYP**). Attualmente sono stati identificati nel genoma umano 57 geni codificanti questi enzimi.

La trasformazione dei carcinogeni procede con la formazione di composti intermedi che, attraverso l'azione di enzimi come le trasferasi, possono andare incontro a coniugazioni con molecole polari. Gli enzimi sulfotrasferasi (SULT) ed n-acetil trasferasi (NAT) catalizzano rispettivamente la sulfonazione e l'acetilazione dei metaboliti nucleofili, cioè la loro coniugazione con piccoli residui come il solfato e l'acido acetico mentre gli enzimi glutatione -S- trasferasi (**GST**) interagiscono con gli elettrofili attraverso il residuo reattivo della cisteina presente nel loro cofattore glutatione (GSH). La glucuronosil trasferasi catalizza la coniugazione con l'acido glucuronico.

Sfortunatamente, l'attivazione in intermedi altamente elettrofili conduce anche a interazioni covalenti con macromolecole cellulari come le proteine o il DNA.

Ad oggi è ben noto che gli N idrossi derivati delle aril amine/amidi, gli amino azo coloranti o le amine eterocicliche sono convertiti dagli enzimi NAT e SULT in

intermedi esterici altamente reattivi in vivo, che si legano al DNA.

La correlazione tra livelli di danno al DNA e potenza carcinogenica indica che differenze nella attività di enzimi che producono o detossificano gli intermedi reattivi del DNA, o che riparano le lesioni risultanti del DNA, possono influenzare il rischio di cancro individuale. Comunque, nessuno degli enzimi che metabolizzano agenti xenobiotici ha effetti strettamente pro- tumorigenici o anti- tumorigenici. Alcuni enzimi che contribuiscono all'inattivazione (detossificazione) di un composto contribuiscono alla tossicità degli altri. Ad es. gli enzimi glutatione trasferasi hanno un effetto detossificante sui diolo epossidi dei PAH ma tossificano aloalcani e alcheni. Un particolare enzima può anche essere coinvolto nella tossificazione e detossificazione di PAH. A livello di riparazione del DNA, ad es. la coesposizione di cellule a ioni nichel potenzia la mutagenesi mediata da benzopirene attraverso l'inibizione della via di riparazione con escissione di nucleotide (NER).

Infine le dosi di carcinogeno inducono cancro nei modelli animali sono molto alte se paragonate con i livelli tipici di esposizione umana, pertanto non è possibile prevedere la risposta biologica dei carcinogeni a basse dosi causa degli effetti specie-specifici.

In base all'ipotesi che anche una lesione singola al DNA può indurre mutazioni nei geni che promuovono il cancro, nessun valore soglia può essere definito sicuro per i carcinogeni genotossici. Comunque, livelli zero di esposizione non sono realistici per molti carcinogeni. Livelli di fondo di addotti DNA-carcinogeno in campioni di tessuto umano da individui normali è stato trovato nell'ambito da 1×10^7 a $0,2 \times 10^8$ nucleotidi.

Con il miglioramento delle conoscenze dei meccanismi di genotossicità carcinogenica e di riparazione di tali lesioni, sarà possibile determinare i livelli minimi di esposizione richiesti affinché si verificano effetti avversi, e per stabilire una soglia di concentrazione affidabile e accettabile nell'ambiente umano.

Nonostante la prova che molti carcinogeni chimici subiscono una conversione metabolica in intermedi DNA reattivi, alcuni composti non si legano al DNA e non sono mutageni sebbene siano carcinogenici in modelli animali a probabilmente anche nell'uomo.

Un carcinogeno epigenetico a cui sempre più persone sono esposte è l'amianto. L'amianto (dal greco: immacolato, incorruttibile) o asbesto (dal greco: perpetuo, inestinguibile) comprende un gruppo di minerali (silicati di magnesio, ferro e sodio) a struttura fibrosa, che, opportunamente preparato, fornisce fibre utilizzate per essere filate e resistenti al calore, con sufficiente flessibilità, con elevata resistenza dielettrica ed elevata resistenza chimica. Ha numerose e importanti proprietà: non è infiammabile, è filabile e flessibile, resistente agli agenti chimici, al calore, alle sollecitazioni meccaniche e all'usura; ha potere fonoassorbente e fonoisolante, può essere tessuto e si mescola facilmente con materiali da costruzione. L'uso dell'amianto risale a qualche migliaio di anni fa: gli egiziani lo usavano nei tessuti per l'imbalsamazione dei cadaveri, i romani per avvolgere i cadaveri da cremare per ottenere ceneri più pure, i cinesi per confezionare tovaglie.

Paradossalmente è stato utilizzato per scopi medici: nel 1600 per la cura delle ulcere delle gambe e fino a circa cinquant'anni fa per la preparazione di polveri contro la sudorazione dei piedi e come amalgame in odontoiatria.

Un decisivo impulso all'uso dell'amianto fu dato dalla scoperta di giacimenti in Canada, Sud Africa, URSS e Stati Uniti per cui si passò dall'utilizzo di quantitativi dell'ordine di circa 340.000 tonnellate negli anni '30 fino a 5 milioni di tonnellate alla fine degli anni '70. In Italia, fino al 1990, è stata attiva la miniera di Balangero (Piemonte), maggior sito produttivo occidentale europeo (150.000 tonnellate annue). Il primo ad evidenziare la patogenicità dell'amianto fu negli anni Sessanta, fu lo scienziato statunitense Irving Selikoff, pioniere nel settore della Medicina del lavoro. Effettuò, infatti, un imponente studio su un campione di 17.800 lavoratori, confermando

la sua convinzione che l'esposizione all'amianto potesse causare il cancro. Selikoff evidenziò che le persone che lavoravano a contatto con l'asbesto anche per un periodo inferiore ad una settimana, riportavano segni a livello polmonare fino a 30 anni dopo. Gli studi dello scienziato furono infine considerati dalle istituzioni, tanto che nel 1970 l'Occupational Safety and Health Administration impose limiti di esposizione per i lavoratori e già nel 1973 la IARC (Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro) aveva inserito l'amianto tra le sostanze certamente cancerogene per l'uomo. Nel 1989 l'Environmental Protection Administration emanò nuove norme per il graduale arresto della produzione di prodotti con asbesto. Le prove scientifiche fornite da Selikoff aprirono anche la via alle prime cause legali per malattie attribuite all'esposizione all'amianto sul lavoro.

Le patologie indotte dall'amianto consistono in un'attività carcinogena (cancro polmonare, mesotelioma pleurico e peritoneale), in una fibrosi polmonare diffusa detta asbestosi, in ispessimenti circoscritti della pleura indicati con il termine di placche (benigne) che rappresentano essenzialmente indicatori di avvenuta esposizione.

Asbestosi. È una malattia respiratoria cronica legata alle proprietà delle fibre di asbesto di provocare una cicatrizzazione (fibrosi) del tessuto polmonare; ne conseguono irrigidimento e perdita della capacità funzionale. Le fibre di asbesto penetrano con l'aria attraverso la bocca ed il naso, procedendo poi lungo la faringe, la laringe, la trachea e i bronchi fino ad arrivare agli alveoli polmonari. Parte dell'asbesto che viene respirato non riesce ad essere espulsa e resta negli alveoli dove provoca una irritazione (alveolite): sembra che questo sia il primo passo per l'instaurarsi di lesioni cicatriziali e quindi di una vera e propria asbestosi.

La quantità di asbesto che resta intrappolata nei polmoni è legata alla quantità totale di asbesto inalato, e dunque all'intensità e alla durata dell'esposizione: l'asbestosi è pertanto una malattia in cui esiste una stretta relazione fra

"dose" di asbesto inalata e "risposta" dell'organismo, quindi tipica di una esposizione professionale.

Mesotelioma. La peculiarità di questo tumore ad alta malignità che colpisce le membrane pleuriche e peritoneali (queste ultime rivestono la cavità addominale e la maggior parte degli organi in essa contenuti), è che nei soggetti suscettibili può insorgere anche in seguito a basse dosi di esposizione mesoteliomi sono quasi inesistenti nella popolazione non esposta ad asbesto, ma rappresentano il 15% dei tumori che colpiscono persone affette da asbestosi: l'individuazione di mesoteliomi deve pertanto sempre far sospettare un'esposizione ad asbesto. Il mesotelioma è causato dalle fibre fini che dal polmone passano alla pleura parietale. La struttura polmone-pleura costituisce una barriera contro tutte le particelle (comprese anche le fibre d'amianto di dimensioni più grandi) ad eccezione di quelle di diametro circa corrispondente a quello delle fibre elementari di asbesto. L'esistenza di mesoteliomi nei residenti e nei familiari mostra che possono essere pericolose anche esposizioni a basse concentrazioni di asbesto. In genere il tempo di latenza (ovvero il tempo che intercorre tra l'esposizione ad amianto e la comparsa della malattia) è dell'ordine di decenni e può anche superare i 40 anni dall'inizio dell'esposizione.

Carcinoma polmonare. Il carcinoma polmonare è in generale il tumore maligno più frequente. Gli elementi eziologici analizzati portano a mutazioni del DNA che innescano un insieme di modificazioni che hanno come risultato finale un'intensa proliferazione dell'epitelio, con aberrazioni dell'architettura del tessuto polmonare.

Con il tempo e con il prolungarsi dell'esposizione, l'insieme di queste modificazioni costituisce il terreno sul quale origina e si muove la neoplasia. Da queste considerazioni si deduce che al disordine neoplastico si associano alterazioni microscopiche, macroscopiche e molecolari, che evolvono in coerenza nel tempo e nello spazio. Occorre quindi considerare sempre che, simultaneamente al disordine neoplastico visibile, si muove un substrato molecolare sincrono ed evolutivo in grado di condizionare la storia

clinica e la prognosi del tumore, conferendo proprietà di invasività, metastatizzazione o resistenza alla chemio-radioterapia.

La mole di conoscenze acquisite sull'amianto e sulle patologie ad esso correlate, impone una maggiore responsabilità in materia di protezione dei lavoratori e della popolazione. Fin dal 1987 l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha raccomandato quale limite per la qualità dell'aria il valore di 1 fibra/litro di amianto. A questo si ritiene che possa corrispondere comunque un rischio di cancro polmonare pari ad 1 caso ogni 100.000 - 1.000.000 di persone ovvero un rischio di mesotelioma pari a 1 caso ogni 10.000 - 100.000 persone. Non si tratta di una dato allarmante ma rappresenta senza ombra di dubbio un forte richiamo ad individuare e monitorare soprattutto quelle situazioni che potenzialmente sono o possono diventare vere e proprie emergenze ambientali. Fondamentale è l'informazione dei lavoratori e dei cittadini in virtù del fatto che, come ripetutamente detto, i materiali contenenti amianto sono molto diffusi e interventi di manutenzione, anche di piccola entità (come accade in ambito domestico), possono causare dispersione di fibre se non eseguiti in maniera corretta.

Un importante carcinogeno umano non genotossico è il 2, 3, 7, 8, tetra-cloro-dibenzo-p-diossina (TCDD). Esso è un prodotto derivato dalla manifattura dei fenoli policlorinati che viene generato attraverso l'incenerimento dei rifiuti.

La classificazione come cancerogena della 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-para-diossina (2,3,7,8-TCDD) e di alcuni altri congeneri ad essa assimilati è un tema dibattuto da lungo tempo e costellato da studi epidemiologici e sperimentali spesso contraddittori. Nel prendere la decisione di includere la 2,3,7,8-TCDD nel Gruppo 1, la IARC (L'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro) nel 1997 diede molto peso alle evidenze di tipo meccanicistico e agli studi sugli animali da esperimento, giudicando meno influente il fatto che le evidenze nell'uomo fossero limitate. Nel 2010, nel processo di

revisione delle sostanze cancerogene da parte della IARC, le evidenze sui meccanismi di cancerogenesi che avevano portato ad una prima classificazione sono state confermate ed unite a più chiare evidenze di tipo epidemiologico. È stato inoltre ribadito che tali evidenze riguardano “tutti i tumori combinati”, cioè che l’aumento di rischio era significativo quando veniva considerato il numero complessivo delle diverse forme tumorali.

Negli studi epidemiologici del 97 l’evidenza più significativa riguardava l’incremento di rischio per “all cancer combined”, indicando con questi termini un aumento dei decessi imputabili al complesso delle patologie tumorali. Molti sforzi scientifici sono stati spesi nel dimostrare l’associazione di alcune specifiche forme tumorali con l’esposizione a 2,3,7,8-TCDD, in particolare i sarcomi dei tessuti molli e i linfomi non-Hodgkin. Tuttavia il Gruppo di Lavoro IARC giudicò che l’eccesso di rischio per sarcomi dei tessuti molli osservato in alcuni gruppi, tra cui anche una italiana, non fosse sufficientemente provato, mentre, per quanto riguarda i linfomi non-Hodgkin, un incremento di rischio fu osservato nei quattro gruppi più significativi e negli studi riguardanti la popolazione di Seveso.

Qui, infatti nel 1976, circa 3000 kg di sostanze chimiche, che comprendevano fino a 20 Kg di TCDD, furono rilasciate nell’intera area dopo l’incendio di un gasdotto dell’impianto ICMESA che produceva erbicidi; più di 30000 persone furono esposte a questi agenti chimici. Nella revisione, sempre ad opera della IARC del 2010, è stata confermata la cancerogenicità certa della 2,3,7,8-TCDD per tutti i tumori combinati, mentre, per quanto riguarda tumore ai polmoni, sarcoma dei tessuti molli e linfoma non-Hodgkin l’evidenza nell’uomo rimane limitata. I meccanismi di azione coinvolti nella cancerogenesi della 2,3,7,8-TCDD si possono ricondurre principalmente a danno ossidativo, soppressione del controllo immunitario, proliferazione cellulare e promozione tumorale. I segnali di trasduzione indotti da 2,3,7,8-TCDD) sono mediati dal recettore acrilico (AhR). Le ipotesi dei meccanismi di

promozione del tumore includono le alterazioni dell'espressione di geni coinvolti nella differenziazione e crescita cellulare, i danni al DNA mediati dal citocromo P-450 e l'espansione di cellule preneoplastiche attraverso l'inibizione dell'apoptosi, la modulazione positiva intra ed extra cellulare di stimoli della crescita.

La revisione IARC del 2010 afferma che l'interazione della 2,3,7,8-TCDD con il recettore arilico è il meccanismo responsabile della cancerogenesi di tale sostanza e, sottolinea come tale proprietà sia mantenuta fra le diverse specie compreso l'uomo; inoltre è riportato che fra i meccanismi recettore-mediati responsabili della cancerogenesi, quello più rappresentato è la promozione dei tumori attraverso la modificazione della replicazione cellulare e dell'apoptosi e, in seconda misura, l'aumento di stress ossidativo responsabile di danni al DNA. La promozione dei tumori attraverso l'inibizione dell'apoptosi conferisce alla 2,3,7,8-TCDD anche un ruolo di co-cancerogeno, ossia di favorire la proliferazione di cellule tumorali iniziate da cancerogeni certi. Il gruppo di lavoro IARC, nell'esprimere il parere in merito alla TCDD, ha tenuto in considerazione le seguenti osservazioni:

- (i) La 2,3,7,8-TCDD è un cancerogeno multiorgano negli animali da esperimento che agisce, come ben dimostrato, attraverso un meccanismo che coinvolge il recettore arilico;
- (ii) questo recettore, dal punto di vista evolutivo, si è altamente conservato ed ha lo stesso funzionamento nell'uomo come negli animali da esperimento; In seguito alla classificazione da parte della IARC, l'Organizzazione Mondiale ha riconsiderato la valutazione del rischio e abbassato notevolmente i livelli giornalieri tollerabili (40, 41). L'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente degli Stati Uniti, che aveva classificato nel 1985 la diossina come un cancerogeno umano probabile (probable human carcinogen), nella relazione di rivalutazione del rischio pubblicata nel 2003 afferma che la diossina è meglio caratterizzata da una classificazione come cancerogeno certo per l'uomo (carcinogenic to humans).

Gli studi più importanti presi in considerazione per la

valutazione della cancerogenicità della 2,3,7,8-TCDD sono essenzialmente quattro gruppi (Stati Uniti, Olanda e due in Germania) di soggetti impiegati nella produzione di erbicidi ed il gruppo di cittadini di Seveso. In particolare, a Seveso, l'area era stata suddivisa in 3 zone, in relazione ai livelli di contaminazione da 2,3,7,8-TCDD del suolo (zona A, 15.5-580.4 ppt; zona B, 1.7-4.3 ppt; zona R, 0.9-1.4 ppt). La mortalità per tutti i tumori combinati nelle aree contaminate non presentava incrementi rispetto all'atteso; eccessi di mortalità erano invece stati osservati per tumori specifici: negli uomini, cancro rettale nella zona B, cancro all'esofago nella zona R e leucemia nella zona B; nelle donne era evidente un eccesso di mortalità per mieloma multiplo e linfoma di Hodgkin nella zona B. La popolazione di Seveso è senza dubbio preziosa per la valutazione degli effetti della 2,3,7,8-TCDD in quanto, a differenza dei gruppi di lavoratori esposti, comprende una popolazione eterogenea per sesso, età e abitudini di vita. Inoltre, gli abitanti della città furono esposti a 2,3,7,8-TCDD pura e non ad una miscela di congeneri. Il follow-up sulla mortalità per tumore nei 20 anni successivi all'incidente mostrava scostamenti significativi rispetto alle previsioni nelle aree più contaminate (A+B) per quanto riguarda tumore al retto e tumori al sistema linfatico ed emopoietico. Per questi ultimi, dopo stratificazione, l'incremento risultava significativo sia per uomini che per le donne, seppur riguardando forme diverse anche in relazione alla latenza, con particolare rilevanza nel gruppo di residenti della zona B. Anche numerosi studi su modelli animali hanno confermato la carcinogenicità mediata da TCDD in vari organi come fegato, tiroide, polmone, corteccia surrenale pelle e linfonodi.

Pochi dubbi rimangono in merito al meccanismo di azione implicato nella cancerogenesi della 2,3,7,8-TCDD: negli anni si sono rafforzate le evidenze della sua azione come promotore dei tumori, attraverso la modificazione della replicazione cellulare e dell'apoptosi e l'aumento di stress ossidativo responsabile di danni al DNA. Per il resto si

conferma l'assenza di un sito specifico di azione: la 2,3,7,8-TCDD si mostra come un cancerogeno multi-organo, anche se non è chiaro se questo sia attribuibile al meccanismo di azione od all'impossibilità di stabilire un sito predominante dagli studi disponibili.

Un argomento importante connesso alla classificazione della 2,3,7,8-TCDD quale cancerogeno certo, è la valutazione del rischio nella popolazione generale. Le stime estrapolate dalle relazioni dose-risposta contenute in alcuni studi indicano che valori di intake giornaliero di poche volte superiori ai valori di background potrebbero essere potenzialmente cancerogeni, con tutte le implicazioni che questo può avere in caso di ulteriori ritocchi dei valori massimi consentiti (controllo degli alimenti ed emissioni industriali).

Il programma reach della Commissione Europea

Milioni di lavoratori sono quotidianamente esposti ad agenti chimici nei loro luoghi di lavoro. Una malattia professionale su tre deriva da essi, ma tale rapporto causale spesso non viene riconosciuto per carenza di informazioni.

E' di recente pubblicazione uno studio condotto da Richard Clapp, epidemiologo dell'Università di Boston, il quale afferma che il numero di ammalati di cancro è molto elevato tra gli operai addetti alla realizzazione dei computer, circuiti integrati, semiconduttori ed altri componenti. Il tipo di patologie più frequentemente riscontrate sembrerebbero interessare il sistema nervoso centrale (cancro al cervello), il tessuto linfatico e quello ematopoietico, ma anche sviluppo di tumori al pancreas, al rene, nonché incremento di patologie quali il morbo di Parkinson, il linfoma non-Hodgkins e la sclerosi laterale amiotrofica.

Gli addetti alla costruzione di questi impianti sono infatti ordinariamente esposti ai solventi ed ai prodotti chimici, nonché ai metalli (arsenico, nichel, bicromato di potassio), ai campi elettromagnetici, alle radiofrequenze ed alle radiazioni dei raggi X. (Richard Clapp; Environmental

Health, 25 ottobre 2006).

L'obiettivo di produrre e utilizzare solo sostanze chimiche che non danneggiano la salute umana e l'ambiente è un impegno assunto dall'Unione Europea, ma condiviso a livello mondiale.

A tal fine, la Commissione europea, a seguito di un'indagine sull'efficacia della legislazione vigente in materia di sostanze chimiche, ha intrapreso una riforma della politica comunitaria, proponendo un nuovo sistema di regolamentazione conosciuto come REACH (Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals for Health, ovvero Registrazione, Valutazione ed Autorizzazione delle Sostanze Chimiche per la Salute).

Il sistema Reach è una riforma che interviene a colmare molte lacune sulla gestione delle sostanze chimiche.

Esso estende il sistema della conoscenza dei rischi, e della prevenzione, a tutta la catena di produzione e di utilizzo dei prodotti chimici, partendo dal principio che deve essere l'industria chimica a comprovare la sicurezza e l'innocuità dei prodotti prima della loro immissione sul mercato.

L'applicazione di questo nuovo sistema può generare un circuito virtuoso vitale, in grado di creare sviluppo sostenibile, miglior salute di lavoratori, bambini, donne, uomini, animali, maggior competitività dell'industria europea, stimolata a ricercare, ed immettere nel mercato, sostanze meno pericolose per la salute e per l'ambiente.

Una corretta applicazione del Regolamento, può produrre tutti i benefici per la prevenzione del rischio chimico nei luoghi di lavoro e per la difesa dagli agenti chimici negli ambienti di vita.

L'introduzione di un nuovo sistema di gestione delle sostanze chimiche può consentire l'avvio in tempi più ravvicinati delle sperimentazioni tossicologiche specifiche a fronte dell'evidenziarsi di cosiddetti eventi sentinella e permetterà risparmi considerevoli in termini di salute in particolare ma anche, globalmente, economici.

A ciò può contribuire in particolare l'obbligo di autorizzazione all'uso delle sostanze più pericolose.

Secondo le proposte del Regolamento europeo Reach, i fabbricanti e gli importatori devono documentare e comunicare tutte le informazioni relative alla sicurezza dei loro prodotti agli utilizzatori a valle e ai consumatori con mezzi idonei. Anche gli articoli importati contenenti sostanze chimiche devono essere soggetti agli obblighi del Reach. Le informazioni fornite dalle industrie devono essere certificate da organismi indipendenti qualificati.

L'uso di ciascun prodotto chimico a elevata pericolosità (cancerogeno, mutageno, tossico per la riproduzione, ecopersistente e bioaccumulabile, perturbatore del sistema endocrino) deve essere autorizzato solo in caso sia essenziale per la società e se non siano disponibili alternative, non o meno pericolose. In tutti gli altri casi i prodotti a elevata pericolosità dovranno essere sostituiti. Occorre investire maggiormente nella ricerca volta alla sostituzione delle sostanze pericolose.

Gli utilizzatori, industriali o privati, devono possedere una conoscenza sui pericoli e sulle misure di tutela al fine di poter operare una scelta informata.

E' fondamentale che si effettui di una sola registrazione per la stessa sostanza chimica, non solo per evitare la duplicazione dei test sugli animali, ma anche per rafforzare la diffusione e condivisione delle informazioni. Si deve sostenere inoltre, anche a livello economico lo sviluppo e l'utilizzo di metodi di test alternativi (in vitro) ai test sugli animali.

Oltre all'applicazione del programma Reach per la prevenzione della carcinogenesi da agenti chimici, l'uso delle tecniche molecolari oggi disponibili permette di aprire una serie di "finestre di osservazione" sulla serie di eventi che intercorre tra esposizione a fattori ambientali nocivi e sviluppo della patologia. Per esempio, è possibile misurare, direttamente nell'uomo, la dose interna dell'agente cancerogeno (p.es. la micotossina aflatossina nelle urine, la cotina da fumo di sigaretta nel plasma o nella saliva) e la dose biologicamente efficace (p.es. misurazione degli addotti sul DNA nel tessuto bersaglio, maggiormente

esposto o soggetto alle patologie correlate). Si possono anche determinare gli effetti biologici irreversibili risultanti dall'interazione dell'agente genotossico con il DNA (misurazione delle mutazioni, delle aberrazioni cromosomiche) così come è possibile valutare le caratteristiche dell'ospite che influenzano la suscettibilità interindividuale (capacità di attivazione/detossificazione degli agenti genotossici e di riparazione del danno al DNA).

Successivamente il più grande obiettivo sarà caratterizzare gli effetti sinergici delle miscele complesse. Questo è un importante problema poiché ogni valutazione del rischio, basata sul monitoraggio tossicologico di soltanto di pochi composti ben studiati, è altamente soggetta ad una valutazione errata.

Ogni valutazione del rischio, che non è considerata variabilità inter individuale nella suscettibilità al danno al DNA in seguito all'esposizione a carcinogeni, potrebbe anche indurre a una sottostima del rischio per quegli individui che sono molto vulnerabili. Perciò è importante identificare individui che sono a maggior rischio di effetti carcinogenici, che si possono verificare anche a bassi livelli di esposizione alle singole sostanze in esame.

A questo riguardo è importante conoscere meglio il ruolo e l'interazione della suscettibilità e la resistenza dei geni bersagliati dai carcinogeni umani o coinvolti nella modulazione delle risposte umane ai composti carcinogenici.

Oltre alla serie di enzimi che contribuiscono all'attivazione e all'escrezione di carcinogeni così come alla riparazione del DNA sembra ragionevole supporre che un gran numero di varianti generiche addizionali a bassa penetranza determinano rischio di cancro sporadico, attraverso l'interazione con fattori ambientali che includono carcinogeni chimici. Queste interazioni gene-ambiente chiaramente meritano ulteriore attenzione soprattutto perché potrebbero essere determinanti sensibili e specifici della incidenza di varie forme di cancro legate

all'esposizione chimica ambientale.

Conclusioni

E' oggi sempre più chiaro che lo sviluppo di un tumore risulta dall'interazione tra fattori ambientali e fattori genetici.

Sono numerosi i fattori ambientali, dall'inquinamento atmosferico, agli additivi alimentari, che possono determinare l'insorgere di neoplasie e questo, insieme ad un'apparente escalation dell'incidenza del cancro tra le cause di mortalità (passata dal 12 al 23 per cento negli ultimi 30 anni sostanzialmente a seguito dell'allungamento della durata media della vita e delle maggiori esposizioni a nuove sostanze presenti nell'ambiente), ha finito per scatenare, oltre a più che legittime campagne di opinione volte a migliorare la qualità dell'ambiente, vere e proprie crociate condotte spesso all'insegna della superficialità se non del fanatismo.

Valga per tutti l'esempio della giusta mobilitazione per limitare l'utilizzo dei clorofluorocarburi, additati fino a non molti anni fa come unici responsabili del cosiddetto "buco dell'ozono". Essa si è tradotta, per importanti mass media, nell'equazione: "ogni bomboletta spray scaricata nell'atmosfera equivale ad un nuovo caso di tumore alla pelle".

La drammatizzazione oltre ogni limite della minaccia ambientale, invece di creare quella indispensabile coscienza ecologica, ancora oggi carente in vasti strati della popolazione, finisce per scatenare una sorta di rigetto per ogni considerazione o iniziativa volta a ridurre l'impatto negativo dell'ambiente sull'uomo.

L'uso di opportuni marcatori biologici fornisce una migliore comprensione della storia naturale del processo patologico e l'identificazione precoce degli eventi rilevanti.

Come già detto, nell'eziologia del cancro esistono anche predisposizioni genetiche. Tra queste ultime va ricordata la recente identificazione delle anomalie in alcuni geni coinvolti nella genesi di molte forme di tumore

polmonare. Di particolare interesse risultano le implicazioni sociali di quest'ultima scoperta in quanto l'azione dell'anomalia genetica si esplicherebbe in presenza di cancerogeni ambientali, in particolare il fumo di sigaretta.

Se, come è probabile, questa scoperta determinerà la diffusione di test per diagnosticare questo tipo di anomalia genetica, sarà possibile concentrare una campagna d'informazione e di responsabilizzazione sui rischi del fumo alle persone "ad alto rischio".

Questo rimanda ad una riflessione sull'importanza di una efficace e capillare campagna sui rischi del fumo che ancora oggi manca nel nostro Paese.

In nome dei fondamentali principi di precauzione e sostenibilità, per la nostra e le future generazioni è importante essere informati e protetti. Pertanto è necessario applicare tutte le possibilità disponibili per attuare concretamente e diffondere buone pratiche di prevenzione dei rischi di esposizione agli agenti chimici, nonché di sostituzione delle sostanze pericolose, e dei processi che le generano, con molecole e procedure prive di tossicità.

Sitografia e bibliografia

www.elettra2000.it/scienza/lavori/cemcancroL2.htm

www.sapere.it

www.prevenzionetumori.it

www.fumo.it/fumatore/faq/ www.lescienze.it

www.nature.com/cancer Nature reviews/ Cancer vol 5 feb. 2005-113-125 www.lab2000.com/lab11-97/rischi.html

Pietro Apostoli, Roberto Bergonzi, Simona Catalani
Classificazione della 2,3,7,8-tetraclorodibenzo para-
diossina come cancerogena: un percorso accidentato-
Dipartimento di Medicina Sperimentale e Applicata,
Sezione di Medicina del Lavoro e Igiene Industriale
Amianto: patologie - ARPnet

www.arpnet.it/aea/asbpat.htm

ecb.jrc.it/REACH/

www.nonsoloaria.com/ipaca.htm
ww.indoor.apat.gov.it/site/it-IT/AGENTI_INQUINANTI/
www.minambiente.it/
www.greenpeace.it